

## PEPTONE - TRYPTONE WATER

Terreno in polvere, pronto all'uso in provetta  
e flacone per il test dell'indolo

**FORMULA (g/L)**

Triptone	10
Sodio cloruro	5

**PREPARAZIONE DEL TERRENO IN POLVERE**

Sciogliere 15 g di polvere in 1000 mL di acqua distillata fredda se necessario riscaldando leggermente. Distribuire in provetta ed autoclavare a 121°C per 15 minuti.

pH finale 7.3 ± 0.2.

**DESCRIZIONE**

Peptone-Tryptone Water, dato l'elevato contenuto in triptofano del triptone, è particolarmente adatto come substrato per la determinazione della produzione di indolo.

Il terreno Peptone-Tryptone Water corrisponde, nella formulazione, al substrato colturale Tryptone Water descritto in ISO 7251 per la determinazione di *E.coli* con metodo MPN. La capacità di metabolizzare il triptofano con formazione di indolo è caratteristica distintiva di alcune specie batteriche; il test è perciò utile ai fini dell'identificazione e classificazione dei microrganismi. Il tempo e la temperatura di incubazione variano a seconda della specie batterica in esame; la presenza di indolo può essere rivelata con il reattivo di Kovacs (REF 19171000).

**IMPIEGO**

Per la determinazione di *Escherichia coli*, ISO 7251 descrive la seguente tecnica:

- 1 -Seminare 3 provette contenenti 10 ml di terreno Lauryl Pepto Bios Broth (REF 401580) a doppia concentrazione con 10 ml del campione da esaminare, se è liquido, o 10 ml della sospensione madre, se solido.
- 2 -Seminare 3 provette con 10 ml di terreno a Lauryl Pepto Bios Broth (REF 401580) concentrazione semplice con 1 ml del campione da esaminare, se è liquido, o 1 ml della sospensione madre, se solido.
- 3 -Per ciascuna delle diluizioni del campione (a partire da 1:10 o 1/:00 a seconda dei casi) seminare tre provette di terreno a concentrazione semplice, con 1 ml di ciascuna diluizione.
- 4 -Incubare le provette a singola e doppia concentrazione in termostato a 35 o 37 ± 1°C per 24 ± 2 ore, oppure, se a questo stadio non si osserva formazione di gas né intorbidimento, per 48 ± 2 ore.
- 5 -A partire da tutte le provette di terreno a concentrazione singola e doppia che mostrino produzione di gas, trapiantare un'ansata di crescita in nuove provette di EC Broth (REF 401425) a concentrazione semplice ed incubare a 45°C per 24 ± 2 ore oppure, se a questo stadio non si osserva formazione di gas, per 48 ± 2 ore
- 6 -A partire da tutte le provette di EC Broth che mostrino produzione di gas trapiantare un'ansata di crescita in provette di Tryptone-Peptone Water ed incubare a 45°C per 48 ± 2 ore.
- 7 -Su queste ultime provette eseguire il test dell'indolo aggiungendo 0.5 ml di reattivo Kovac's (REF 19171000)
- 8 -Per ogni diluizione, contare il numero di provette indolo positive ed esprimere i risultati facendo uso delle apposite tabelle MPN.

Peptone-Tryptone Water è indicato nel test di conferma dei coliformi fecali negli alimenti. Trasferire un'ansata di crescita microbica dai tubi positivi di Mac Conkey Broth in provette di Peptone-Tryptone Water e di Brilliant Green Bile Broth 2% e incubare a 44°C; eseguire il test dell'indolo sulla crescita di 24 ore in Peptone-Tryptone Water e osservare lo sviluppo di gas in Brilliant Green Bile Broth 2% dopo 24 ore e 48 ore. Le colture che a 44°C sono indolo positive e producono gas sono da considerarsi coliformi di origine fecale.

Per l'esecuzione del test dell'indolo su colture pure operare come segue:

Inoculare una provetta di Peptone Tryptone Water usando un inoculo leggero ed incubare a 35/37°C per 18-24 ore con il tappo della provetta allentato.

Aggiungere 0,5 ml di reattivo di Kovacs (REF 19171000) ed agitare.

Lasciar riposare le provette per 5-10 minuti.

Esaminare per la formazione di un anello rosso-porpora sulla superficie del brodo (test dell'indolo positivo).

**CONTROLLO DI QUALITÀ DELL'UTILIZZATORE (37°C-24h)**

Controllo indolo positivo

*E.coli* ATCC 25922

Controllo indolo negativo

*K.pneumoniae* ATCC 23357

### **CONSERVAZIONE**

**Terreno in polvere:** conservare a 10-30°C al riparo della luce, in luogo asciutto. In queste condizioni il prodotto è valido fino alla data di scadenza indicata in etichetta. Non utilizzare oltre questa data. Eliminare se vi sono segni di deterioramento della polvere (modifiche del colore, indurimento della polvere ecc.)

**Terreni pronti all'uso in provetta e flacone:** conservare a 2-8°C nella loro confezione, fino alla data di scadenza indicata in etichetta. Eliminare se vi sono segni evidenti di deterioramento.

### **PRECAUZIONI E SICUREZZA DEGLI OPERATORI**

I preparati qui descritti non sono classificati come pericolosi ai sensi della legislazione vigente né contengono sostanze pericolose in concentrazioni  $\geq 1\%$ . Come per tutti i terreni in polvere, anche la manipolazione di questo terreno deve essere effettuata con una adeguata protezione delle vie respiratorie.

I prodotti qui descritti devono essere usati solo in laboratorio, da operatori adeguatamente addestrati, con metodi approvati di asepsi e di sicurezza nei confronti degli agenti patogeni. Sterilizzare le provette o i flaconi dopo il loro uso e prima dell'eliminazione come rifiuto.

### **BIBLIOGRAFIA**

- Mackenzie, E.F.W., Taylor, E.W. & Gilbert, W.E. (1948) J. Gen. Microbiol., 2, 19
- Cowan & Steel's Manual for the Identification of Medical Bacteria, 2nd edition, revised by S.T. Cowan, Cambridge University Press (1974).
- Edwards, P.R & Ewing, W.H. (1972) - Identification of Enterobacteriaceae. 3rd edition. Minneapolis: Burgess Publishing Company.
- ICMSF (1978) - Microorganisms in Foods: their Significance and Methods of Enumeration, 2nd ed.
- ISO 7251:2005 Microbiology of food and animal feeding stuffs -- Horizontal method for the detection and enumeration of presumptive Escherichia coli -- Most probable number technique

### **CONFEZIONI**

<b>4018912 Peptone-Tryptone Water,</b>	500 g (33.3 L)
<b>551891 Peptone-Tryptone Water,</b>	20x9 mL provette pronte all'uso
<b>5118912 Peptone-Tryptone Water,</b>	6 flaconi da 100 mL pronti all'uso